

## ETUDE DE LA TOLERANCE BIOLOGIQUE D'UNE PLANTE A ACTIVITE ANTIPLASMODIALE *MOMORDICA CHARANTIA L* (Cucurbitaceae)

SAKANDE J, AHIBOH H, EDJEME A, YAPO A.E

Département de biochimie - biologie moléculaire et biologie de la reproduction - UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques - Université de Cocody – Abidjan

Correspondance à adresser à Jean SAKANDE 09 BP 863 OUAGA09 Tel (00226) 332871/253259

### RESUME

*Momordica charantia L* (Cucurbitacées) est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle africaine. Plusieurs travaux sur les extraits de cette plante ont mis en évidence de nombreuses propriétés pharmacologiques dont une activité antiplasmodiale.

Des études ont rapporté des concentrations inhibitrices 50% (CI<sub>50</sub>) variant de 7-23 µg /ml sur les souches de *Plasmodium falciparum* confirmant ainsi l'usage traditionnelle de cette plante comme antipaludique.

En l'absence de travaux sur la toxicité chronique de cette plante, l'objectif de notre étude était d'apporter des éléments sur la tolérance biologique des extraits. Pour ce faire l'étude a consisté en l'administration quotidienne de l'extrait aqueux lyophilisé de la plante entière à des lapins. Les analyses biochimiques et l'hémogramme à J<sub>0</sub>, J<sub>3</sub>, J<sub>15</sub> et J<sub>30</sub> ont montré une bonne tolérance biologique. Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour l'utilisation en thérapeutique des extraits de *M. charantia L* dont l'activité antiplasmodiale est confirmée par plusieurs auteurs.

**MOTS CLES :** *Momordica charantia L* – activité antiplasmodiale – tolérance biologique

### I. INTRODUCTION

De nombreux médicaments sont proposés dans le traitement du paludisme mais face à l'émergence de souches de plasmodiums résistantes et au coût particulièrement élevé des nouvelles thérapeutiques proposées, souvent inaccessibles à la grande majorité, les populations africaines ont recours à des plantes utilisées de façon empirique comme antipaludique. C'est ainsi que la plante entière de *Momordica charantia L* est largement commercialisé dans les marchés de Côte d'Ivoire et utilisé comme antipaludique.

C'est une herbacée grimpante à villes axillaires très répandue dans toutes les zones chaudes du globe dont les indications thérapeutiques traditionnelles sont nombreuses (2, 3, 4, 7, 9, 12, 20).

Des travaux antérieurs de notre laboratoire ainsi que ceux d'autres auteurs sur les extraits de cette plante ont rapporté des Concentrations Inhibitrices 50%(CI<sub>50</sub>) de 7µg/ml à 23µg/ml sur des souches résistantes de *Plasmodium falciparum* (9, 18, 20). Cependant peu de travaux ont porté sur la toxicité après administration réitérée de *Momordica charantia L*.

Notre étude avait pour objectif d'apporter des éléments de toxicité subchronique après

### ABSTRACT

#### BIOLOGIC TOLERANCE STUDY OF A ANTIPLASMODIAL PLANT EXTRACT *MOMORDICA CHARANTIA L* (Cucurbitaceae)

*Momordica charantia L* is a medicinal plant widely used in Africa . Several pharmacologic studies on this plant showed antiplasmodial activity (Inhibitory Concentration IC 50%= 7-23 µg/ml on *Plasmodium falciparum*). The aim of this study was to evaluate subchronic toxicity of this plant. Freeze dry extract of *Momordica charantia L* was orally and daily administrated to rabbit during four weeks. Blood biochemistry and haematological analysis on D0,D3,D15,D30 showed that the extract is well tolerated. The study open interesting perspectives in therapeutic.

**KEYS WORDS :** *Momordica charantia L*, antiplasmodial activity,biologic tolerance.

administration réitérée selon l'usage traditionnelle afin de susciter d'éventuelles dispositions préventives au ministère de la santé en cas de toxicité avérée eut égard à l'usage massive de cette plante sinon de progresser en direction de l'utilisation en thérapeutique moderne des extraits de *Momordica charantia L*.

### II. MATERIEL ET METHODES

#### 1. Matériel

##### 1.1. Lyophilisat

La plante entière a été récoltée au mois de juin à la période de maturité des fruits à Anyama dans la banlieue d'Abidjan. La plante a été identifiée par le Professeur L Ake Assi ,directeur de l'herbier national de Côte d'Ivoire .Ce matériel végétal a été séché sous abris puis pulvérisé . 50 grammes de poudre ont été mis en suspension dans 500ml d'eau puis porté à ébullition pendant 45 minutes selon le mode de préparation du tradipraticien. Le décocté a été lyophilisé et gardé au dessiccateur dans le souci d'une bonne conservation du produit et ceci jusqu'à la fin des essais.

##### 1.2 Animal de laboratoire

Les expériences ont été conduites sur des lapins albinos de race cunistar âgés de 3 mois et pesant en moyenne 1,8kg.Ces animaux ont été stabilisés à une température ambiante de 22°C et 70% d'humidité à l'animalerie de l'UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques d'Abidjan. Ils avaient accès à l'eau et à la nourriture à volonté. La photopériode est de 12H/24H. Les animaux ont été repartis en deux lots de huit lapins .Chaque lot comprenait quatre males et quatre femelles selon les recommandations des directives européennes sur les essais de toxicité des médicaments (16,19).

## 2. Méthodes

### 2.1. Administration

Le premier lot appelé Dosex2 a reçu deux fois la dose normale de l'homme estimée à partir des posologies(20) des tradipraticiens à 0,5mg/ml/j et le deuxième lot ou Dosex10 a reçu dix fois la dose normale. Ceci correspondait à une dose journalière de 1mg/kg pour le lot Dosex2 et 5mg/kg pour le lot Dosex10. Le produit a été administré tous les matins par gavage pendant 4 semaines à l'aide d'une seringue à laquelle est adaptée un tube souple en plastique.

### 2.2. Prélèvements et dosages

Les prélèvements ont été effectués les matins à jeun au niveau de la veine de l'oreille à Jo avant administration puis J<sub>3</sub>, J<sub>15</sub>, J<sub>30</sub> dans un tube contenant un anticoagulant (EDTA) pour l'hématologie et un tube sec pour la biochimie.

Les paramètres biochimiques ont été dosés par un automate Lisa 300 de Hycel et l'héogramme par un Coulter T 890.

### 2.3. Analyse des résultats

L'analyse des résultats a été réalisée avec le logiciel Epi Info version 6.04. Le test non paramétrique de Kruskal Wallis a été retenu pour la comparaison des moyennes. La différence entre deux moyennes était significative si  $p < 0,05$ .

## III. RESULTATS

**Tableau I :** Evolution des paramètres biochimiques du lot dose X 2

Paramètres	J <sub>0</sub>	J <sub>3</sub>	J <sub>15</sub>	J <sub>30</sub>	p
Urée (mg/l)	0,29 (0,03)	0,33 (0,03)	0,36 (0,03)	0,43 (0,01)	0,03
Glucose (g/l)	0,70 (0,21)	0,99 (0,20)	0,90 (0,41)	1,4 (0,11)	0,01
Créatinine (mg/l)	9,62 (2,82)	8,75 (1,50)	9,50 (1,73)	16,75 (3,68)	0,03
Acide urique (mg/l)	1,19 (0,92)	0,64 (0,18)	0,46 (0,70)	1,91 (1,77)	0,29
Protéines (g/l)	0,94 (0,17)	0,88 (0,12)	0,65 (0,16)	1,27 (0,65)	0,07
Cholestérol total (g/l)	0,37 (0,09)	0,33 (0,08)	0,30 (0,11)	0,50 (0,24)	0,32
HDL cholestérol (g/l)	1,29 (0,55)	1,29 (0,51)	0,98 (0,51)	0,93 (0,36)	0,55
IA (CholT./ HDLChol)	62 (21)	78 (37)	94 (30)	59 (9)	0,19
Triglycérides (g/l)	37 (20)	37 (30)	64 (35)	18 (4)	0,08
GPT (UI/l)					
GOT (UI/l)					

( ) : écart type

IA : indice d'athérogénicité

GPT : transaminase glutamopyruvique

GOT :transaminase oxalopyruvique

HDL= high density lipoprotein

**Tableau II :** Evolution des paramètres hématologiques du lot dose X 2

PARAMETRES	J <sub>0</sub>	J <sub>3</sub>	J <sub>15</sub>	J <sub>30</sub>	p
GB (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	5,22(0,93)	5,40(1,16)	5,85(1,19)	7,12(3,40)	0,92
GR (x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	5,70(0,57)	5,66(0,19)	5,62(0,17)	5,71(1,32)	0,99
Hémoglobine (g/dl)	12,02(1,09)	11,47(0,53)	11,70(0,63)	12,40(2,52)	0,68
Hématocrite(%)	39,58(3,16)	37,95(2,08)	38,22(2,16)	40,15(8,86)	0,83
VGM (fl)	69,75(6,64)	66,87(1,75)	67,72(1,49)	67,55(1,51)	0,92
TCMH (pg)	21,10(1,19)	20,22(0,38)	20,75(0,55)	21,80(2,00)	0,24
CCMH (g/dl)	30,32(1,28)	30,20(0,25)	30,70(0,24)	30,92(0,55)	0,13
Plaquette (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	306(103)	527(42)	333(36)	544(154)	0,015
PNN (/mm <sup>3</sup> )	1740(654)	2125(618)	2350(377)	2610(1253)	0,28
PNE (/mm <sup>3</sup> )	95(81)	375(368)	45(54)	627(1241)	0,09
PNB (/mm <sup>3</sup> )	0	0	45(54)	25(50)	0,11
Lymphocytes (/mm <sup>3</sup> )	3223(1035)	2890(806)	3295(655)	2820(2200)	0,7
Monocytes (/mm <sup>3</sup> )	131(140)	12(25)	107(177)	152(176)	0,41
Réticulocytes (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	119,67(52)	124,5(120,09)	165,8(36,21)	136(98,27)	0,51

**Tableau III :** Evolution des paramètres biochimiques du lot dose X 10

PARAMETRES	J <sub>0</sub>	J <sub>3</sub>	J <sub>15</sub>	J <sub>30</sub>	p
Urée (mg/l)	0,29(0,03)	0,31(0,07)	0,33(0,07)	0,25(0,12)	0,75
Glucose (g/l)	0,70(0,21)	0,97(0,19)	0,69(0,43)	1,25(0,23)	0,041
Créatinine (mg/l)	9,62(2,82)	9,25(1,25)	11,75(3,20)	13,25(3,09)	0,2
Acide urique (mg/l)	1,19(0,92)	1,49(0,67)	1,95(3,42)	4,10(2,78)	0,09
Protéines (g/l)	53(5)	46,25(8,30)	48,75(6,99)	53,25(0,95)	0,39
Cholestérol total (g/l)	0,94(0,17)	0,85(0,51)	0,81(0,65)	0,76(0,25)	0,41
Cholestérol HDL (g/l)	0,37(0,09)	0,32(0,14)	0,34(0,05)	0,33(0,07)	0,8
IA (Chol. T / HDL Chol.)	2,70(0,51)	2,62(0,86)	2,63(1,53)	2,45(1,26)	0,77
Triglycérides (g/l)	1,29(0,55)	0,87(0,39)	0,97(0,50)	0,72(0,20)	0,19
GPT (UI/l)	62(21)	28(7)	30(16)	33(19)	0,01
GOT (UI/l)	37(20)	26(22)	19(3)	17(3)	0,03

**Tableau IV :** Evolution des paramètres hématologiques du lot dose X 10

PARAMETRES	J <sub>0</sub>	J <sub>3</sub>	J <sub>15</sub>	J <sub>30</sub>	p
GB (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	5,22(0,93)	7,35(0,91)	7,17(2,05)	8,85(1,74)	0,01
GR (x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	5,70(0,57)	5,06(0,07)	4,51(1,05)	5,51(0,44)	0,17
Hémoglobine (g/l)	12,02(1,09)	10,75(0,49)	10,77(2,88)	11,67(1,52)	0,58
Hématocrite (%)	39,58(3,16)	35,80(1,55)	33,02(6,07)	37,72(4,30)	0,2
VGM (fl)	69,75(6,64)	69,30(3,20)	74,27(9,06)	68,32(4,85)	0,69
TCMH (pg)	21,10(1,19)	21,60(1,16)	24,00(4,58)	21,10(1,93)	0,68
CCMH (g/dl)	30,32(1,28)	30,47(1,44)	32,35(5,00)	30,85(0,74)	0,64
Plaquettes(x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	306(103)	281(80)	294(113)	499(110)	0,08
PNN (/mm <sup>3</sup> )	95(81)	515(621)	212(182)	555(722)	0,42
PNE (/mm <sup>3</sup> )	0	35(49)	55(71)	0	0,16
PNB (/mm <sup>3</sup> )	3223(1035)	4820(480)	4775(2676)	4992(993)	0,10
Lymphocytes (/mm <sup>3</sup> )	131(140)	65(91)	37(75)	57(72)	0,39
Monocytes (/mm <sup>3</sup> )	11,967(52)	210,5(61,52)	180,25(78,07)	199(9,89)	0,39
Réticulocytes (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )					

## IV. DISCUSSION

### 1. Résultats biochimiques

#### 1.1. Métabolisme glucidique

Les valeurs moyennes de la glycémie à J<sub>0</sub> sont dans l'intervalle des valeurs moyennes de la glycémie des lapins selon le vademecum du vétérinaire (0,77 - 1,55g/l). De même nos valeurs sont proches de celles de AHIBOH (0,81 ±0,41 g/l) (8). Nous avons noté une élévation de la glycémie de Jo à J30 mais cette augmentation est restée dans les limites normales aussi bien dans le lot Dose x 2 que dans le lot Dose x 10.

Nos résultats s'opposent à ceux de Karumanayake (11) qui a mis en évidence une activité hypoglycémiant avec le décocté aqueux de fruit de *M. charantia L* administré à l'animal par voie orale ainsi que Jain (10) qui en 1967 avait constaté également une chute de la teneur en sucre sanguin chez le lapin normal après administration des extraits de plante entière. Trois molécules isolées des graines et des fruits de *M. charantia* avaient ainsi été rendues

responsables de l'activité hypoglycémiant. Ce sont : la charantine (17), un peptide proche de l'insuline (17) et les acides  $\alpha$  et  $\beta$  amino butyriques (13).

Le décocté de *M. charantia* entraînerait donc une perturbation de la glycorégulation. Dans notre étude nous pensons que l'élévation notable de la glycémie pourrait être rattachée surtout au stress subi par les animaux au moment du prélèvement puisque la glycémie est restée dans les limites des valeurs normales de  $J_0$  à  $J_{30}$ .

### 1.2. Métabolisme lipidique

Il n'a été noté aucune variation significative de la cholestérolémie moyenne de  $J_0$  à  $J_{30}$  dans les 2 lots Dose x 2 et Dose x 10 (respectivement  $p = 0,07$  et  $p = 0,4$ ).

De même l'administration du produit n'a exercée aucune influence sur la triglycéridémie dans les 2 lots. C'était le cas également de l'indice d'athérogénicité qui est resté quasi constant au cours de notre étude. En somme nos résultats n'ont pas montré de perturbation lipidique.

### 1.3. Métabolisme protidique

La fourchette de variation de la protidémie à  $J_0$  était proche de celle de Ahiboh ( $48,5 \pm 6,1g/l$ ) (8). L'administration du produit n'a pas permis d'observer une variation significative de la protidémie de  $J_0$  à  $J_{30}$  aux deux doses étudiées.

### 1.4. Exploration hépatique

Les valeurs moyennes des transaminases à  $J_0$  étaient en accord avec les valeurs de référence du Vademecum (GOT : 16 - 98 UI/l et GPT : 33 - 80 UI /l) et celles de AHIBOH (TGO :  $27 \pm 13$  UI/l et GPT :  $50 \pm 20$  UI/l).

Nous n'avons noté des variations significatives des transaminases qu'au cours de l'expérience du lot Dose x 10 ( $p = 0,01$  pour GPT et  $p = 0,03$  pour GOT). L'analyse de l'allure des transaminases dans ce lot montre une tendance à la baisse. L'absorption du décocté de *M. charantia L* n'entraînerait donc pas de cytolysé mais plutôt un effet inverse. Ces résultats s'opposent à certaines données de la littérature rapportant que plusieurs fractions extraites de *M. charantia L* présentent des effets cytotoxiques (21). A titre comparatif l'administration de l'artémether à des rats (18 mg/kg/j) pendant 4 semaines entraîne une élévation significative des transaminases hépatiques (GPT et GOT) (14) il en est de même avec l'halofantrine (15). Ceci montre que les extraits de *M. charantia* sont mieux tolérés que ces molécules commercialisées.

### 1.5. Exploration rénale

Les valeurs de l'urée et la créatinine n'ont pas varié de façon significative tout au long de l'étude dans le lot Dose x 10. Pourtant nous avons observé une augmentation significative de l'urée de la créatinine dans le lot Dose x 2. Cette augmentation n'ayant pas été observée dans le lot Dose x 10 qui a reçu une dose nettement supérieure est difficilement rattachable à l'administration de l'extrait. Aussi nous n'avons pas noté de variations significatives de l'uricémie après administration répétée de *M. charantia L*. Notons cependant que pour des molécules comme l'artémether il a été rapporté également une élévation modérée de l'urémie après administration répétée chez des rats (26).

## 2. Résultats hématologiques

L'analyse de l'hémogramme n'a montré aucune particularité cytomorphologique. Nous n'avons pu mentionner de  $J_0$  à  $J_{30}$  qu'une augmentation significative du nombre de globules blancs ( $p = 0,01$ ) dans le lot Dose x 10.

Il n'y a eu aucune évolution significative de la réticulocytose au cours de nos travaux de  $J_0$  à  $J_{30}$  dans les 2 lots. A titre comparatif, l'administration répétée chez le rat de l'artémether commercialisé entraîne une anémie et une réticulocytose associée à une polynucléose (26). Le nombre de plaquettes est resté constant dans le lot Dose x 10 ( $p = 0,08$ ) alors qu'il a varié significativement dans le lot Dose x 2 ( $p = 0,015$ ). Cette évolution en dent de scie de ces plaquettes est difficilement interprétable et ne devrait être rattachée à l'administration du produit puisqu'il n'y a pas eu de variations dans le lot Dose x 10 qui a reçu une dose supérieure.

## CONCLUSION

En conclusion sur le plan biochimique et hématologique *M. charantia L* a été bien toléré après administration répétée. L'usage répété après un mois de cette plante n'entraîne pas un danger pour la santé toutefois les légères perturbations biologiques observées devraient être pris en compte lors des travaux de purification et d'isolement des principes actifs. Bien entendu les études toxicologiques devraient être poursuivies avec les études anatomopathologiques, les études sur les fonctions de la reproduction (fertilité, tératogénèse péri et post natalité) et l'étude du pouvoir mutagène.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 ACCT - Fiche espèce sur *Momordica charantia L. Cucurbitaceae*. Médecine traditionnelle et pharmacopée - Bulletin de liaison ACCT 1989, Vol 3 N° 2, 177-94.
- 2 ADJANOHOUN E., AKE ASSI L., ALI A et collaborateurs - Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques aux Comores ACCT Ed. Paris 1982.
- 3 ADJANOHOUN E. et al - Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Congo ACCT Ed. Paris 1985.
- 4 ADJANOHOUN E. et collaborateurs - Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques de la Dominique ACCT Ed. Paris 1985.
- 5 ADJANOHOUN E. et collaborateurs - Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Togo ACCT Ed. Paris 1986.

- 6 ADJANOHOUN E. et collaborateurs - Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Bénin ACCT Ed. Paris 1989.
- 7 ADJANOHOUN E. et collaborateurs - Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Nigeria occidental Yorubaland CSTR/OUA Ed. Lagos 1989.
- 8 AHIBOH H., SAKANDE J., EDJEME A., YAPO A.E - Contribution à l'étude de la tolérance biologique d'une plante à activité antiplasmodiale *Carica papaya* (caricaceae). Communication 1ères journées biologiques nationales support de la pharmacopée africaine. Abidjan 30 Nov - 4 Déc. 1998.
- 9 GBEASSOR M., KOSSOU Y., DE SOUZA C., AMEGBO K., DENKE A., KOUMAGLO K - Action de quelques plantes médicinales sur la croissance du *Plasmodium falciparum* in vitro. Médecine traditionnelle et pharmacopée Bull de liaison ACCT.
- 10 JAIN S.R., SHARMA S.N - Hypoglycaemic drugs of indian indigenous origin - *Planta Med.* 1967, vol 15 439-42.
- 11 KARUMANAYAKE E. H., WELI HINDA J., SIRIMANNE S.R., GOWRI-SINNA A., DORAI A.D - Oral hypoglycaemic activity of some medicinal plants of Sri Lanka *J. of ethno pharmacology* 1984, vol 11, 223-31.
- 12 KERHARO J., ADAM J.M - La pharmacopée sénégalaise traditionnelle - Plantes médicinales et toxiques. Ed. Vigot Frères Paris 1974, 387-89.
- 13 KERHARO J., BOUQUET A - Plantes médicinales et toxiques de Côte d'Ivoire - Vigot Frères Paris, 1950, 295 p.
- 14 LABORATOIRES RHONE POULENC RORER PALUTHER (arthémether) - Solutions 8% pour injection IM. Monographie Paluther 1997, 60p.
- 15 LABORATOIRE SMITH KLINE BEECHAM HALFAN - HALOFANTINE HYCHLORIDE - product information SB House, Brentford, Middlesex, England TWS 9 BD 60 p.
- 16 LAROCHE M.J., FABIANI P., ROUSSELET F. - L'expertise toxicologique des médicaments Ed. Mason, Paris, 1986, 367 p.
- 17 LOTLIKAR M.M., RAJARAMARAO M.R - Pharmacology of a hypoglycemic principle isolated from the fruits of *Momordica charantia* L. *Indian J. pharm.* 1966, vol. 28, N° 5 129-33.
- 18 MENAN E.I.H - Evaluation de l'activité antiplasmodiale de deux extraits de plantes de la pharmacopée ivoirienne (*Momordica charantia*), *Parkia biglobosa*). Mémoire DEA Abidjan 1997, 30 p.
- 19 REPUBLIQUE FRANCAISE - Arrêté du 9 décembre 1996 fixant les normes et protocoles applicables aux essais analytiques aux essais toxicologiques et pharmacologiques ainsi qu'à la documentation clinique auxquels sont soumis les médicaments ou produits mentionnés à l'article L 601 du code de la santé publique - NOR : TASP 96243 70 A - Journal officiel de la Rép. Française, Paris 1996.
- 20 SONNA T.G - Contribution à la valorisation de la pharmacopée africaine : Etude botanique, essais préliminaires, évaluation in vitro de l'activité antiplasmodiale et étude de la toxicité aiguë de *Momordica charantia* (Cucurbitaceae) Abidjan Thès. Phar. 1997, 86 p.
- 21 TAKEMOTO D.J., DUNFORD C., MAC MURRAY M.M - The cytotoxic and cytostatic effects of the bitter melon (*Momordica charantia* L) on human lymphocytes *Toxicol* 1982, Vol 20, N°3 : 593 - 99.